

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE *BACILLUS* SPP. ISOLADOS DE SOLO DE LOCALIDADES DO SUL DO BRASIL

Elisa Zorzi; Fabiane Mezzomo; Roberta Soldatelli Pagno; Rute Ribeiro
Universidade de Caxias do Sul- Centro de Ciências Agrárias e Biológicas - Instituto de Biotecnologia
Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas

INTRODUÇÃO:

O Brasil possui um sistema agroalimentar de frutas muito importante para o consumo interno e para as exportações. Esses sistemas são suscetíveis a várias doenças e pragas tanto no campo, quanto na armazenagem, podendo provocar grandes prejuízos econômicos ao setor. As doenças causadas por fungos fitopatogênicos são as mais frequentes em maçãs estocadas. Visando a diminuição do uso de produtos químicos, prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana, o controle biológico vem sendo estudado e utilizado para substituir estas substâncias. Um dos microrganismos comprovados que possuem ação no controle de fitopatógenos são os *Bacillus* spp., encontrados no solo. Essas bactérias tem sido usadas para controle de diversas doenças de folhas e doenças pós-colheita, pois possuem a capacidade de produzir endosporos resistentes ao calor. *Bacillus subtilis* é um exemplo de produtor de antibióticos. Esses antibióticos podem desenvolver atividade antibacteriana e/ou antifúngica contra fitopatógenos.

OBJETIVO:

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de isolados de *Bacillus* spp., com potencial antagonista contra fungos fitopatogênicos de importância na cultura da maçã, causadores de podridões pós-colheita (e.g., *Alternaria* spp., *Penicillium* spp. e *Botrytis cinerea*) in vivo.

MATERIAIS E MÉTODOS:

Cada um dos isolados, F62 e FR2B2 de *Bacillus* spp. foi desenvolvido em dois frascos Erlenmeyer de 250 mL de volume com 25 mL de caldo nutriente por 24 horas. Maçãs sadias foram lavadas com detergente e água corrente, desinfetadas com hipoclorito de sódio, deixadas secar naturalmente, e expostas à luz ultravioleta. Em cada uma, foram feitas quatro lesões de 5 mm de comprimento na superfície superior do fruto, com a ajuda de um bisturi. Para avaliação do efeito das culturas originais dos isolados bacterianos sobre cada um dos fitopatógenos alvo, uma alíquota de 20 µL da cultura mais 20 µL de suspensão conidial de cada patógeno com concentração 10⁴ conídios/mL, foram transferidos para cada uma das lesões. Para a avaliação do efeito do sobrenadante das culturas bacterianas contra os fungos, 10 mL da cultura líquida dos isolados bacterianos foram centrifugados e filtradas em membrana de celulose (0,2 µm) e o filtrado resultante foi diluído em água destilada autoclavada, nas proporções de 1 mL e 1,5 mL do filtrado para 9 mL e 8,5 mL de água, respectivamente.

Alíquotas de 20 µL de cada concentração e mais 20 µL de suspensão conidial de cada fitopatógeno com concentração 10⁴ conídios/mL, foram transferidas para maçãs previamente lesionadas. Para cada fungo alvo desafiado, com cada um dos sobrenadantes das culturas de *Bacillus*, foi tratada uma maçã com com quatro lesões, considerando-se quatro repetições. O experimento foi realizado em duas temperaturas, 5°C e 20°C, sendo as maçãs tratadas armazenadas em sacos plásticos autoclavados. Os desenvolvimento de sintomas foi observado diariamente até que fossem visíveis.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no trabalho indicam que os isolados F6.2 e FR2B2 de *Bacillus* spp., têm potencial para o controle biológico de fungos fitopatogênicos causadores de lesões pós-colheita da maçã, como demonstram os dados apresentados nas Figuras 1 e 2. Na Fig. 1 A e B pode ser observado a inibição do desenvolvimento das lesões, em maçãs inoculadas e armazenadas na temperatura de 20°C. Nestas condições o isolado FR2B2 inibiu significativamente o desenvolvimento de *Alternaria* spp. mas não o desenvolvimento de *Botrytis* spp., o que pode indicar que o resultado da interação entre os microrganismos inoculados no tecido da maçã, define o desenvolvimento ou não de lesões. O mesmo pode ser indicado para o resultado obtido com o isolado F6.2, que foi efetivo contra *Botrytis* spp., mas não para *Alternaria* spp.

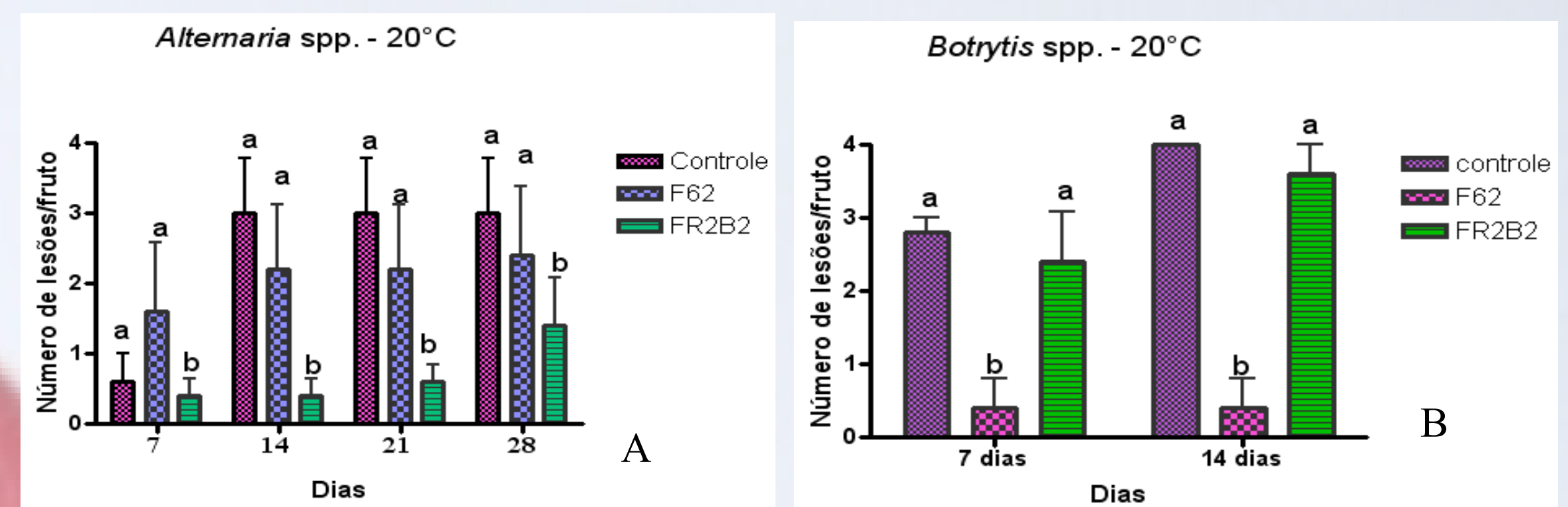


Figura 1: Número de lesões desenvolvidas em maçãs inoculadas com os isolados F6.2 e FR2B2 de *Bacillus* e os fitopatógenos desafiados. (A) *Alternaria* spp.; (B) *Botrytis* spp.

No entanto, o mesmo resultado não se repetiu quando as maçãs foram armazenadas durante 30 dias em câmara fria. Neste caso, o isolado F6.2 mostrou-se mais eficiente no controle de *Alternaria* spp. No controle de *Botrytis* spp., provavelmente como este patógeno desenvolve-se facilmente em baixas temperaturas, nenhum dos isolados de *Bacillus* foi eficiente.

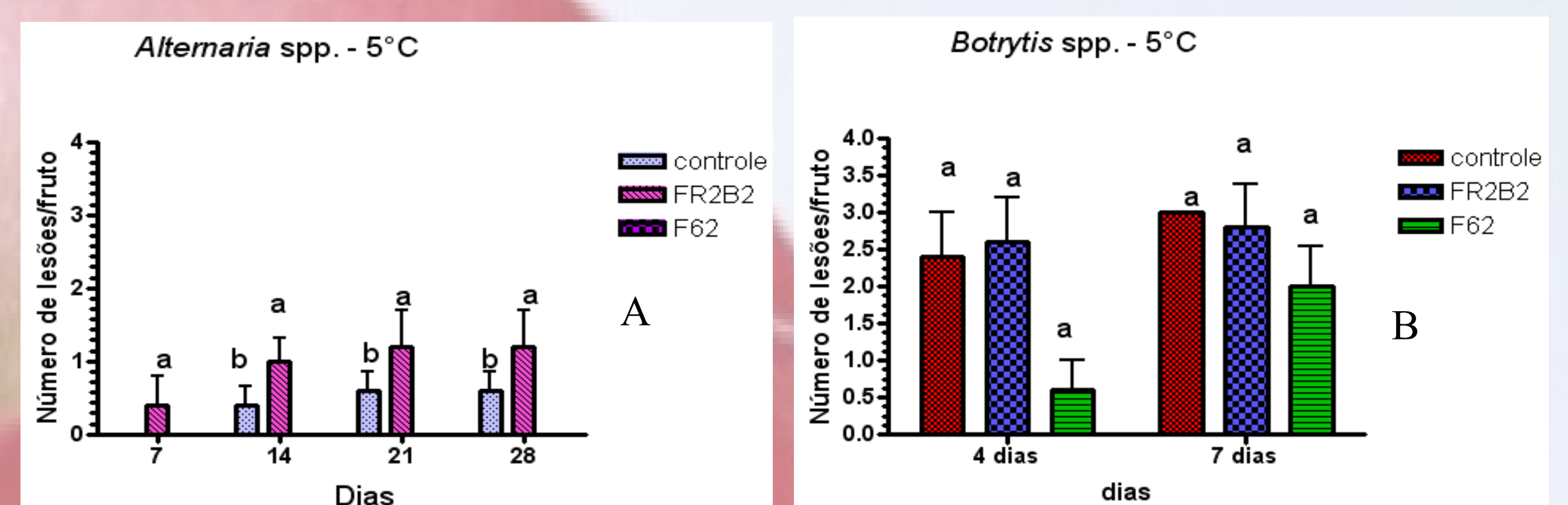


Figura 2. Desenvolvimento de lesões em maçãs frigorificadas e tratadas com os isolados F6.2 e FR2B2 de *Bacillus* spp. e os fungos alvos. (A) *Alternaria* spp.; (B) *Botrytis* spp.

Nas Figuras 3 (A e B) e 4 (A e B), os dados indicam que o filtrado das culturas dos dois isolados de *Bacillus*, nas concentrações utilizadas não foi eficiente, havendo o desenvolvimento de lesões causadas pelos fitopatógenos, em todas as frutas.

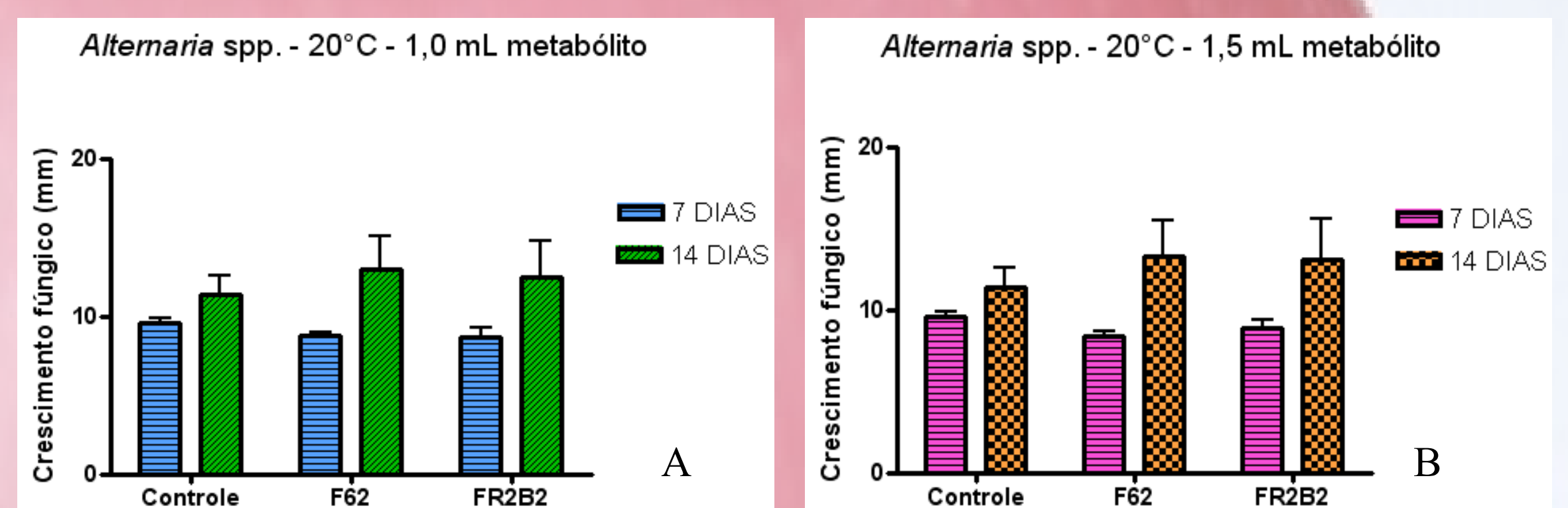


Figura 3. Efeito do caldo de cultura, em duas concentrações, dos isolados F6.2 e FR2B2 de *Bacillus* spp. sobre o desenvolvimento de *Alternaria* spp., em maçãs armazenadas a 20°C. (A) 10% de caldo; (B) 15% de caldo.

Na Figura 4 A e B, os dados indicam que o tratamento das maçãs com o caldo de cultura dos dois isolados de *Bacillus* spp., não inibiu o desenvolvimento de *Botrytis* spp.

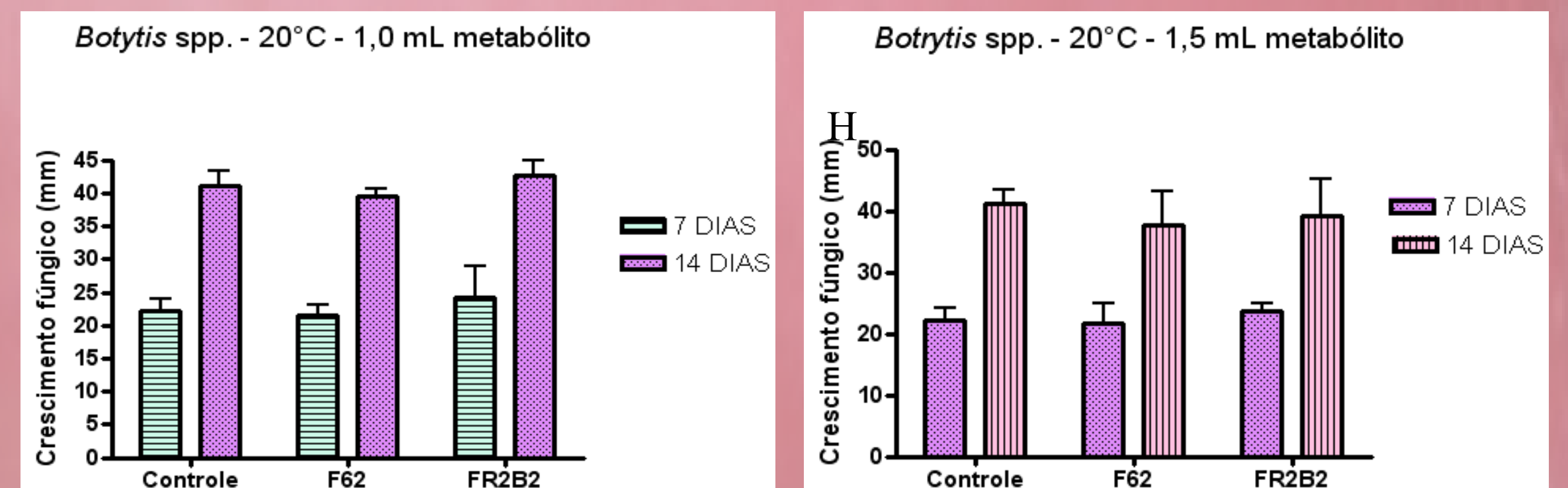


Figura 4. Efeito do caldo de cultura, em duas concentrações, dos isolados F6.2 e FR2B2 de *Bacillus* spp. sobre o desenvolvimento de *Botrytis* spp., em maçãs armazenadas a 20°C. (A) 10% de caldo; (B) 15% de caldo.

Os dados apresentados demonstram que os isolados F6.2 e FR2B2 de *Bacillus* spp., têm potencial para controle biológico, porém mais estudos se fazem necessários, como a definição de especificidade de hospedeiro. No caso da utilização de caldo de cultura, como forma de inibição do desenvolvimento de fitopatógenos, outras concentrações deverão ser avaliadas.

Provavelmente, a redução de lesões no pós-colheita da maçã, será o resultado da ação um conjunto de ações, e entre elas a utilização de isolados antagonistas de *Bacillus* spp.